CE

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Villin
Clone 1D2 C3
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS076

English

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Monoclonal Anti-Villin, Clone 1D2 C3, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody is useful for the identification of colon adenocarcinoma (1, 2) and renal cell carcinoma (1). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and explanation

Villin is a 95 kDa calcium-regulated actin-binding protein that plays a role in regulating actin filament assembly. It is a major constituent of the brush border of epithelial cells forming absorptive surfaces in the microvilli of the intestinal and renal proximal tubular epithelia (3, 4). In normal human tissue, villin is expressed by a limited number of simple epithelia of the gastrointestinal and urogenital tract (1, 5). Among neoplasms, villin is predominantly expressed in tumors of colorectal origin. Villin expression has been reported in the majority of colorectal carcinomas, including both primary and metastatic tumors (1, 2, 5-7). Immunoreactivity has also been reported in a subset of adenocarcinomas of the bladder, cervix, endometrium, gall bladder, kidney, liver, lung, pancreas and stomach (1, 2, 6, 7).

Refer to Dako's Gen*eral Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: 1D2 C3. Isotype: IgG1, kappa.

Immunogen

Purified porcine villin (8).

Specificity

Anti-Villin, clone 1D2 C3 recognizes a well-conserved epitope found in the head piece of villin and reacts with human, chicken, pig, rat, and *Xenopus laevis* villin-equivalent protein in immunoblotting (8). In Western blotting of Hela cells transfected with cDNAs encoding wild type human villin or villin variants, the antibody labels a band of approximately 95 kDa, corresponding to the expected molecular weight of villin (9).

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 ℃. Do not use after expiration date s tamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation including materials required but not supplied

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010/K8014).

Deparaffinized sections: Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide.

Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010/K8014). The following parameters should be used for PT Link: Pre-heat temperature: 65 °C; epitope retrieval temperature and time: 97 °C for 20 (± 1) minutes; cool down to 65 °C. Remove Autostainer slide rack with slides from the PT Link tank and immediately dip slides into a jar/tank (e.g., PT Link Rinse Station, Code PT109) containing diluted room temperature EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (K8010). Leave slides in Wash Buffer for 1-5 minutes.

Paraffin-embedded sections: As alternative specimen preparation, both deparaffinization and epitope retrieval can be performed in the PT Link using a modified procedure. See the PT Link User Guide for instructions. After the staining procedure has been completed, the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Dako Silanized Slides (Code S3003) is recommended.

Staining procedure including materials required but not supplied

The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols:

Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume)

Autoprogram: Villin (without counterstaining) or VillinH (with counterstaining)

The Auxiliary step should be set to “rinse buffer” in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to “none”. This ascertains comparable wash times.

All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator’s Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in “Performance characteristics”.

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include appendix and pancreas and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in “Performance characteristics” in all positive specimens. The recommended negative control reagent FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

Staining interpretation

The cellular staining pattern is predominantly membranous and/or cytoplasmic and the cytoplasmic staining may be accompanied by nuclear staining.

Performance characteristics

Normal tissues:

Tissue Type (# tested)	Positively Staining Tissue Elements
Appendix (10)	10/10 membrane epithelial cells
Bone marrow (3)	0/3
Breast (2)	0/2
Cervix (2)	0/2
Colon (2)	2/2 Mucosal epithelium (100%), membrane
Esophagus (2)	0/2
Kidney (3)	3/3 Proximal convoluted tubule epithelium (30-100%), membrane and cytoplasmic
Ovary (2)	0/2
Pancreas (3)	2/3 Ductal epithelium (100%), membrane
Pituitary (3)	0/3
Prostate (2)	0/2
Thyroid (2)	0/2
Uterus (2)	0/2

Abnormal tissues (1):

Tumor Type (# tested)	Positively Staining Tumors
Breast	
Invasive ductal (9)	0/9
Invasive lobular (2)	0/2
Mucinous (1)	0/1

Colon adenocarcinoma (24)	24/24
Endometrial adenocarcinoma (11)	4/11
Gall bladder carcinoma	
Adenocarcinoma (2)	2/2
Adenosquamous (1)	0/1
Gastric carcinoma	
Tubular adenocarcinoma (6)	6/6
Signet-ring-cell/undifferentiated (3)	1/3
Liver carcinoma	
Hepatocellular carcinoma (1)	1/1
Cholangiocarcinoma (1)	0/1
Lung carcinoma	
Adenocarcinoma (18)	5/18
Adenosquamous (1)	0/1
Mesothelioma (diffuse) (7)	0/7
Oral cavity squamous cell carcinoma (2)	0/2
Ovarian carcinoma	
Adenocarcinoma (7)	0/7
Anaplastic carcinoma (2)	0/2
Pancreatic adenocarcinoma (14)	12/14
Renal cell carcinoma	
Clear cell type (grades I-III) (13)	9/13
Basophilic cell type (grades I, II) (3)	3/3
Eosinophilic cell type (grade II) (1)	1/1
Chromophobe cell type (grade II) (4)	0/4
Prostate adenocarcinoma (2)	0/2
Soft tissue synovial sarcoma (biphasic) (1)	0/1
Thyroid carcinoma (papillary) (1)	0/1
Urinary bladder transitional cell carcinoma (2)	0/2

Français

Réf. IS076

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

L'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Villin, Clone 1D2 C3, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), est destiné à être utilisé en immunohistochimie avec les appareils Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps est utile pour l'identification des adénocarcinomes du côlon (1, 2) et des carcinomes à cellules rénales (1). L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication

La villine est une protéine de liaison à l'actine de 95 kDa, régulée par le calcium qui joue un rôle dans la régulation de l'assemblage des filaments d'actine. Il s'agit d'un composant majeur de la bordure en brosse des cellules épithéliales formant des surfaces absorbantes dans les microvillosités de l'épithélium intestinal et de l'épithélium tubulaire proximal du rein (3, 4). Dans le tissu humain sain, la villine est exprimée par un nombre limité d'épithéliums simples des tractus gastro-intestinal et urogénital (1, 5). Dans les néoplasmes, la villine est essentiellement exprimée dans les tumeurs d'origine colorectale. L'expression de la villine a été rapportée dans la majorité des carcinomes colorectaux, y compris à la fois les tumeurs primaires et métastatiques (1, 2, 5-7). Une immunoréactivité a également été rapportée dans un sous-ensemble d'adénocarcinomes de la vessie, du col de l'utérus, de l'endomètre, de la vésicule biliaire, du rein, du foie, du poumon, du pancréas et de l'estomac (1, 2, 6, 7).

Se reporter aux « *Instructions générales de coloration immunohistochimique* » de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : 1D2 C3. Isotype : IgG1, kappa.

Immunogène

Villine de porc purifiée (8).

Spécificité

L'anticorps Anti-Villin, Clone 1D2 C3, reconnaît un épitope bien conservé retrouvé dans le domaine carboxy-terminal (appelé « headpiece ») de la villine et il réagit par immunoblot avec une protéine équivalente à la villine humaine, à la villine du porc, du rat, du poulet et de *Xenopus laevis* (8*).* Lors de Western Blots effectués sur des cellules HeLa transfectées avec des ADNc codant pour la villine humaine de souche sauvage ou bien pour des variants de la villine, l'anticorps marque une bande d'environ 95 kDa correspondant au poids moléculaire attendu de la villine (9).

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), un produit chimique hautement toxique sous sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date limite de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patients. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

Le prétraitement avec un démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) est nécessaire. Pour obtenir des résultats optimaux, prétraiter les tissus à l'aide du produit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8010/K8014).

Coupes déparaffinées : Il est recommandé de prétraiter les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine qui ont été déparaffinées à l'aide de l'appareil PT Link de Dako (réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se reporter au Guide d'utilisation du PT Link.

Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice du produit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8010/K8014). Les paramètres suivants doivent être utilisés pour le PT Link : température de préchauffage : 65 °C ; température et durée du démasquage d'épitope : 97 °C pendant 20 (±1) minute s ; refroidissement jusqu'à 65 °C. Retirer le porto ir à lames Autostainer contenant les lames de la cuve du PT Link et plonger immédiatement les lames dans un récipient/une cuve (par ex., station de rinçage du PT Link, réf. PT109) contenant du tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8010) dilué à température ambiante. Laisser les lames dans le tampon de lavage pendant 1 à 5 minutes.

Coupes incluses en paraffine : Comme préparation alternative des échantillons, le déparaffinage et le démasquage d'épitope peuvent être réalisés dans l'appareil PT Link en utilisant une procédure modifiée. Consulter le Guide d'utilisation du PT Link pour obtenir des instructions. Une fois que la procédure de coloration est terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames Dako Silanized Slides (réf. S3003).

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le système EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8010). Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel des appareils Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :

Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume de distribution de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume de distribution de 300 µL)

Programme automatique : Villin (sans contre-coloration) ou VillinH (avec contre-coloration)

L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration avec ≤10 lames. Pour les cycles de coloration de >10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela confirme des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se reporter au Manuel de l'opérateur spécifique à l'appareil. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'appareil Dako Autostainer utilisé, contacter l'assistance technique de Dako.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation désire une intensité de coloration différente, un ingénieur d'application/un spécialiste de l'assistance technique de Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la reprogrammation du protocole. Vérifier que les performances du protocole modifié sont toujours valides en vérifiant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit à la section « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'hématoxyline à l'aide du produit EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps et avec le même protocole que les échantillons de patients. Le tissu de contrôle positif doit comprendre l'appendice et le pancréas et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction semblables à ceux décrits pour ces tissus à la section « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le réactif de contrôle négatif recommandé est le produit FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. IS750).

Interprétation de la coloration

Le schéma de coloration cellulaire est essentiellement membranaire et/ou cytoplasmique et une coloration cytoplasmique peut être accompagnée d'une coloration nucléaire.

Caractéristiques de performance

Tissus sains :

Type de tissus (nbre testés)	**Éléments tissulaires colorés positivement**
Appendice (10)	10/10 : cellules épithéliales, membranaire
Moelle osseuse (3)	0/3
Sein (2)	0/2
Col de l'utérus (2)	0/2
Côlon (2)	2/2 : épithélium muqueux (100 %), membranaire
Œsophage (2)	0/2
Rein (3)	3/3 : épithélium tubulaire proximal enroulé (30-100 %), membranaire et cytoplasmique
Ovaire (2)	0/2
Pancréas (3)	2/3 : épithélium canalaire (100 %), membranaire
Hypophyse (3)	0/3
Prostate (2)	0/2
Thyroïde (2)	0/2
Utérus (2)	0/2

Tissus tumoraux (1) :

Type de tumeur (nbre testés)	**Tumeurs colorées positivement**
Sein	
Canalaire invasif (9)	0/9
Lobulaire invasif (2)	0/2
Mucineux (1)	0/1
Adénocarcinome du côlon (24)	24/24
Adénocarcinome de l'endomètre (11)	4/11
Carcinome de la vésicule biliaire	
Adénocarcinome (2)	2/2
Adénosquameux (1)	0/1
Carcinome gastrique	
Adénocarcinome tubulaire (6)	6/6
À cellules en bague à chaton/Indifférencié (3)	1/3
Carcinome hépatique	
Carcinome hépatocellulaire (1)	1/1
Cholangiocarcinome (1)	0/1
Carcinome pulmonaire	
Adénocarcinome (18)	5/18
Adénosquameux (1)	0/1
Mésothéliome (diffus) (7)	0/7
Carcinome épidermoïde de la cavité buccale (2)	0/2

Carcinome ovarien	
Adénocarcinome (7)	0/7
Carcinome anaplasique (2)	0/2
Adénocarcinome pancréatique (14)	12/14
Carcinome à cellules rénales	
De type à cellules claires (grades I-III) (13)	9/13
De type à cellules basophiles (grades I, II) (3)	3/3
De type à cellules éosinophiles (grade II) (1)	1/1
De type à cellules chromophobes (grade II) (4)	0/4
Adénocarcinome de la prostate (2)	0/2
Sarcome synovial des tissus mous (biphasique) (1)	0/1
Carcinome de la thyroïde (papillaire) (1)	0/1
Carcinome à cellules transitionnelles de la vessie (2)	0/2

Deutsch Code-Nr. IS076

Zweckbestimmung

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Villin, Clone 1D2 C3, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie in Verbindung mit Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper dient zur Identifikation von Darm-Adenokarzinomen (1, 2) und Nierenzellkarzinomen (1). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erklärung

Villin ist ein kalziumreguliertes, aktinbindendes 95-kDa-Protein, das bei der Regulation des Aktinfilamentaufbaus eine Rolle spielt. Es ist einer der Hauptbestandteile des Bürstensaums von Epithelzellen, der absorbierende Oberflächen in den Mikrozotten des proximalen Tubulus-Epithels im Darm und in der Niere bildet (3, 4). In normalem menschlichem Gewebe wird Villin in einer begrenzten Zahl von einfachen Epithelien des gastrointestinalen und urogenitalen Trakts exprimiert (1, 5). Was Neoplasmen betrifft, wird Villin überwiegend in Tumoren kolorektalen Ursprungs exprimiert. Über eine Villin-Expression wurde bei der Mehrzahl von kolorektalen Karzinomen einschließlich primärer und metastatischer Tumore berichtet (1, 2, 5–7). Villin-Immunreaktivität wurde auch bei einer Untergruppe von Adenokarzinomen in Harnblase, Zervix, Endometrium, Gallenblase, Niere, Leber, Lunge, Pankreas und Magen dokumentiert (1, 2, 6, 7).

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält.

Clone: 1D2 C3. Isotyp: IgG1, kappa.

Immunogen

Gereinigtes Villin vom Schwein (8).

Spezifität

Anti-Villin, clone 1D2 C3 weist ein gut konserviertes Epitop nach, das im Kopfteil von Villin auftritt, und reagiert beim Immunblotting mit Villin von Mensch, Huhn, Schwein und Ratte sowie mit dem villin-äquivalenten Protein von *Xenopus Laevis* (8*).* Beim Western-Blot von Helazellen, die mit cDNA transfiziert wurden, menschliches Wildtyp-Villin oder Villinvarianten kodiert, wies der Antikörper eine Bande von ungefähr 95 kDa nach, was mit dem erwarteten Molekulargewicht von Villin übereinstimmt (9).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Für Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuften Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Es ist eine Vorbehandlung mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung (HIER-Verfahren) erforderlich. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010/K8014) erzielt werden.

Entparaffinierte Schnitte: Die Vorbehandlung entparaffinierter formalinfixierter, paraffineingebetteter Gewebeschnitte sollte mit dem System Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) erfolgen. Weitere Informationen hierzu: siehe PT Link-Benutzerhandbuch.

Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010/K8014) durchführen. Für das PT Link-System sollten die folgenden Parameter verwendet werden: Vorwärmtemperatur: 65 °C; Temperatur und Zeit für Epitopdemaskierung: 97 °C für 20 (±1) Minuten; auf 65 °C abkühlen. Das Autostainer Objektträgergestell mit den Objektträgern aus dem PT Link-Behälter herausnehmen und die Objektträger sofort in einen Behälter (z. B. PT Link Rinse Station, Code-Nr. PT109) mit verdünntem, auf Zimmertemperatur gebrachtem EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010) eintauchen. Die Objektträger für 1–5 Minuten im Waschpuffer belassen.

Paraffineingebettete Schnitte: Alternativ können Entparaffinierung und Epitopdemaskierung im PT Link unter Verwendung eines modifizierten Verfahrens durchgeführt werden. Weitere Informationen finden Sie im PT Link-Benutzerhandbuch. Nach Abschluss des Färbeverfahrens müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Fixiermittels auf die Objektträger aufgebracht werden.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von Dako Silanized Slides (Code-Nr. S3003) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software von Autostainer Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrix-Protokoll: FLEXRTU2 (200 µl Anwendungsvolumen) oder FLEXRTU3 (300 µl Anwendungsvolumen)
Autoprogramm: Villin (ohne Gegenfärbung) oder VillinH (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der Zusatz-Schritt auf „Pufferspülgang“ eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den Zusatz-Schritt auf „Keine“ einstellen. Dies gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte bei Raumtemperatur durchführen. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Protokolle auf dem verwendeten Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Dako.

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Färbemuster identisch ist.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Als positive Kontrollen sollten Appendix und Pankreas verwendet werden, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativ-Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster ist vorwiegend membranös und/oder zytoplasmatisch. Die zytoplasmatische Färbung kann mit einer nukleären Färbung einhergehen.

Leistungsmerkmale

Normale Gewebe:

Gewebetyp (Anz. getestet)	Gewebeelemente mit positiver Färbung
Appendix (10)	10 von 10 Epithelzellen, Membran
Knochenmark (3)	0/3
Brust (2)	0/2
Zervix (2)	0/2
Darm (2)	2 von 2 Mukosaepithel (100 %), Membran
Speiseröhre (2)	0/2
Niere (3)	3 von 3 Epithel des proximalen Tubulus (Pars convouta) (30–100 %), Membran und Zytoplasma
Ovarium (2)	0/2
Pankreas (3)	2 von 3 duktales Epithel (100 %), Membran
Hypophyse (3)	0/3
Prostata (2)	0/2
Schilddrüse (2)	0/2
Uterus (2)	0/2

Pathologische Gewebe (1):

Tumortyp (Anz. getestet)	Tumore mit positiver Färbung
Brust	
Invasiv duktal (9)	0/9
Invasiv lobular (2)	0/2
Muzinös (1)	0/1
Kolon-Adenokarzinom (24)	24/24
Endometriales Adenokarzinom (11)	4/11
Gallenblasenkarzinom	
Adenokarzinom (2)	2/2
Adenosquamöses Karzinom (1)	0/1
Magenkarzinom	
Tubulus-Adenokarzinom (6)	6/6
Siegelringzelle/undifferenziert (3)	1/3
Leberkarzinom	
Hepatozelluläres Karzinom (1)	1/1
Cholangiokarzinom (1)	0/1
Lungenkarzinom	
Adenokarzinom (18)	5/18
Adenosquamöses Karzinom (1)	0/1
Mesotheliom (diffus) (7)	0/7
Mundhöhlen-Plattenepithelkarzinom (2)	0/2
Ovarialkarzinom	
Adenokarzinom (7)	0/7
Anaplastisches Karzinom (2)	0/2
Pankreas-Adenokarzinom (14)	12/14
Nierenzellkarzinom	
Klarzellenkarzinom (Grad I–III) (13)	9/13
Basophiler Typ (Grad I, II) (3)	3/3
Eosinophiler Typ (Grad II) (1)	1/1
Chromophober Typ (Grad II) (4)	0/4
Prostata-Adenokarzinom (2)	0/2
Weichgewebe-Synovialsarkom (biphasisch) (1)	0/1
Papilläres Schilddrüsenkarzinom (1)	0/1
Blasen-Übergangsepithelkarzinom (2)	0/2

References
Bibliographie
Literaturangaben

1. Moll R, Robine S, Dudouet B, Louvard D. Villin: a cytoskeletal protein and a differentiation marker expressed in some human adenocarcinomas. Virchows Arch B. 1987;54:155-69.
2. Suh N, Yang XJ, Tretiakova MS, Humphrey PA, Wang HL. Value of CDX2, villin, and alpha-methylacyl coenzyme A racemase immunostains in the distinction between primary adenocarcinoma of the bladder and secondary colorectal adenocarcinoma. Mod Pathol. 2005;18:1217-22.
3. Bretscher A, Weber K. Villin: the major microfilament-associated protein of the intestinal microvillus. Proc Natl Acad Sci USA. 1979;76:2321-25.
4. Arpin M, Pringault E, Finidori J, Garcia A, Jeltsch JM, Vandekerckhove J, et al. Sequence of human villin: a large duplicated domain homologous with other actin-severing proteins and a unique small carboxyl-terminal domain related to villin specificity. J Cell Biol. 1988;107:1759-66.
5. West BA, Isaac CA, Carboni JM, Morrow JS, Mooseker MS, Barwick KW. Localization of villin, a cytoskeletal protein specific to microvilli, in human ileum and colon and in colonic neoplasms. Gastroenterology. 1988;94:343-52.
6. Bacchi CE, Gown AM. Distribution and pattern of expression of villin, a gastrointestinal-associated cytoskeletal protein, in human carcinomas: a study employing paraffin-embedded tissue. Lab Invest. 1991;64:418-24.
7. Lau SK, Prakash S, Geller SA, Alsabeh R. Comparative immunohistochemical profile of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma, and metastatic adenocarcinoma. Human Pathol. 2002;33:1175-81.
8. Dudouet B, Robine S, Huet C, Sahuquillo-Merino C, Blair L, Coudrier E, et al. Changes in villin synthesis and subcellular distribution during intestinal differentiation of HT29-18 clones. J Cell Biol. 1987;105:359-69.
9. Friederich E, Vancompernolle K, Louvard D, Vandekerckhove J. Villin function in the organization of actin cytoskeleton. J Bio Chem.1999;274:26751-60.

REF — Catalogue number / Référence du catalogue / Bestellnummer	Temperature limitation / Limites de température / Zulässiger Temperaturbereich	IVD — In vitro diagnostic medical device / Dispositif médical de diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum
Manufacturer / Fabricant / Hersteller	LOT — Batch code / Code du lot / Chargenbezeichnung	Σ — Contains sufficient for <N> tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Inhalt ausreichend für „n' Ansätze
Use by / Utiliser jusque / Verwendbar bis	Consult instructions for use / Consulter les instructions d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten	EC REP — Authorized representative in the European Community / Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne / Autorisierter Repräsentant in der EU

Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC REP
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

PT0020/ Rev C

Edition 04/08